

Postkondisjonering, en usannsynlig beskyttelse av hjertet?



Cuma Taymur, Atif Abbas

Prosjektoppgave ved Det Medisinske Fakultet

**Universitetet i Oslo
Mars 2008**

Innhold

ABSTRACT	3
Metoder.....	4
1 Poskondisjonering i mennesker og dyr.....	5
1.1 Beskrivelse av termene pre-postkondisjonering og reperfusjon.....	5
1.1 Poskondisjonering i rotter og mus.....	5-8
1.2 Postkondisjonering i hunder.....	8-10
1.3 Postkondisjonering i kaniner.....	10-11
1.4 Postkondisjonering i menneskehjertet.....	12-15
1.5 Postkondisjonering under hjertekirurgi.....	16
1.6 Konklusjon.....	17
2 Mekanismene ved postkondisjonering.....	18
2.3 mPTP.....	18-19
2.4 Protein kinaser.....	19-22
2.5 Endogen ligament binding	22
2.6 Apoptose.....	22
2.7 ROS.....	22
2.8 Ca overload.....	23-24
2.9 mKATP-kanal.....	24-25
2.10 Konklusjon.....	25
3 Referanser.....	26-29

Abstract:

Coronary heart disease is one of the most important causes of death in the world. And it causes the death of about 8 million people every year. Methods of revascularization as thrombolysis, percutan coronary intervention (PCI), open heart surgery or combinations of these has improved the prognosis of ischemic hearth disease the last decades. Medical treatment with beta-blockers, ACE inhibitors, statins and antiplatelet agents has significantly reduced the morbidity and mortality of acute myocardial infarction (AMI).

Despite that the restoration of blood flow is absolutely necessary treatment of myocardial ischemia, reoxygenation will cause further damage of the heart. Studies show that the damage by reoxygenation can be reduced with postconditioning wich is an intervention best described by brief periods of ischemia and reperfusion by restoration of blod flow. We have therefore studied postconditioning and examined the experiments and mechanisms of this phenomenon. Studies have so far showed that adenosine reseptors, Ca-overload, reactive oxygen species (ROS), protein kinases and mitochondrial permeability transition pore (mPTP) are important in the understanding of the mechanisms behind postconditioning.

Postconditioning seems to be a fairly simple strategy to apply during coronary angioplasty in patients with ongoing AMI. It is still unknown whether postconditioning is feasible, safe and efficient in those patients. And we still lack clear evidence for the existence of lethal myocardial reperfusion injury in human. The potential of postconditioning (i.e limitation of infarct size, improvement in prognosis) should be tested in clinical trials. Further studies are still important to find the optimal algorythm for perfusion-occlusion sequences, just as much as for other mechanisms in postconditioning.

Metoder :

Dette er en litteraturstudie hvor artiklene er innhentet og begrenset via veileder. Man har forsøkt å begrense seg til artikler som bare omhandler postkondisjonering, men det har ikke vært mulig å unngå artikler hvor også prekondisjonering er beskrevet da disse fenomenene er nærliggende. Stikkordene "mekanismer" og "dyre/menneskeforsøk" var sentrale i utvelgelsen av artikler.

Postkondisjonering i mennesker og dyr.

Beskrivelse av prekondisjonering: Iskemisk prekondisjonering (IPK) ble først lansert som begrep og beskrevet i 1986 da Murry og medarbeidere fant at kortvarige alternerende episoder med ikke-letal myokardiskemi og reperfusjon, reduserte infarktstørrelsen ved en etterfølgende langvarig iskemiepisode.

Beskrivelse av postkondisjonering: Tilsvarende prinsippet ved prekondisjonering har man vist at alternerende korte episoder med iskemi og reperfusjon ved gjenoppretting av blodstrømmen etter en langvarig iskemiepisode vil kunne begrense infarktstørrelsen, et fenomen kalt postkondisjonering [37,Zhao].

Beskrivelse av reperfusjon: Reperfusjonsstrategier som trombolyse, perkutan koronar intervensjon (PCI), angioplastikk (bypass) er reperfusjonsinngrep som beskytter hjertet ved infarkt. Denne reoksygeneringen har også betydning for de celledskadene som oppstår etter infarkt. Reperfusjonsskade defineres her som skade oppstått etter iskemiperioden, i forbindelse med reperfusjon av iskemisk vev.

I det følgende beskrives noen forsøk i mennesker og dyr som tar for seg litt forskjellige mekanismer ved postkondisjonering.

Postkondisjonering i rotter og mus:

Det ble foretatt en rekke forsøk på rotter og mus ved ullevål sykehus tilknyttet Universitetet i Oslo i 2006 (Vaage m fl.)[29]. Der ble beskyttelsen gitt av postkondisjonering sammenlignet med prekondisjonering, og effekten av postkondisjonering på rotter versus mus undersøkt.

For å forstå postkondisjonering i praksis kan det være greit å få forklart hvordan slike forsøk utføres. For å få utført forsøkene in vivo måtte man anestetisere forsøksdyrene med isofluran i oksygenrik romluft via en orotracheal eller en trakheostomitube og ventilere mekanisk. Det ble foretatt en venstre thoracotomi. En polypropylen-tråd ble plassert rundt en stor gren av venstre koronararterie, og endene ble tredt gjennom en tube for å okkludere.

For å studere in vivo infarktstørrelse i rotter ble forsøket utformet slik: Rottene undergår 30 min med regional iskemi og 90 min med reperfusjon. De ble bli randomisert til følgende grupper:

- 1.kontrollgruppe (n=8)
2. postkondisjonering ved 3 sykluser med 15 s reperfusjon og 15 s iskemi (n=12).

For å studere ex vivo infarktstørrelse i rotter ble forsøket utformet slik:

Global iskemi (studie1).Postkondisjonering ved 3 sykluser med 10 sekunder reperfusjon og 10 sekunder iskemi fulgt av forlenget iskemi (3x10). Postkondisjonering 3x30 sekunder.Postkondisjonering 2x60 sekunder. Iskemisk prekondisjonering ved 2 sykluser med reperfusjon før forlenget iskemi. Ved slutten av reperfusjon ble hjertene høstet inn for bestemmelse av infarktstørrelse.

Regional iskemi (studie2). Regional iskemi i 40 minutter, fulgt av 120 minutter med reperfusjon. Hjertene ble så randomisert til en av de følgende grupper, n=10 :

- 1.kontrollgruppe
 - 2.postkondisjonering 3x10 sekunder
 - 3.postkondisjonering 6x10 sekunder
- Igjen ble hjertene på slutten av reperfusjonen høstet inn for bestemmelse av infarktstørrelse.

Studie av in vivo infarktstørrelse i musehjerter: musene undergikk 30 minutter med regional iskemi og 60 sekunder med reperfusjon. Musene ble randomisert til følgende grupper, n=7 i hver gruppe:

- 1.kontrollgruppe
- 2.Postkondisjonering med i 3 sykluser med 10 sekunder reperfusjon og 10 sekunder med iskemi.

Studie av ex vivo musehjerter: Man høstet hjertene med lungene, plassert i iskald Krebs Hensleit Buffer(KHB) og dissekert fri. En studie på global iskemi ble foretatt: Hjertene (n=10) ble randomisert til følgende grupper:

- 1.kontrollgruppe
- 2.postkondisjonering i 3 sykluser med 10 sekunder reperfusjon og 10 sekunder iskemi.

For å bestemme infarktstørrelse ble rottehjertene kuttet i 2mm skiver og inkubert i triphenyltetrazoliumchloride. Hjertesnivene ble plassert mellom to glassplater og fotografert digitalt. Infarkt område og risikoområde ble kalkulert med ett dataprogram. Samme prosedyre ble brukt for isolerte musehjerter bortsett fra at skivene var på 1mm og ett annet program ble brukt for kalkulasjon.

Resultater av de ovenfornevnte forsøkene:

Global iskemi i isolerte rottehjerter: Postkondisjonering var ikke beskyttende for hjertet. Mens prekondisjonering reduserte infarktstørrelse.

Regional iskemi i isolerte rottehjerter: Postkondisjonering i 3 sykluser med 10 sekunder reperfusjon (gruppe2.), viste en svak tendens til redusert infarktstørrelse.

Infarktstørrelse i in vivo rottehjerter: Det var en reduksjon av infarktstørrelse i den postkondisjonerte gruppen.

Global iskemi i ex vivo musehjerter: Postkondisjonering reduserte infarktstørrelse.

Infarktstørrelse i in vivo musehjerter: Postkondisjonering reduserte markant infarktstørrelse.

Postkondisjonering beskyttet ikke isolerte rottehjerter, men prekondisjonering forbedret hjertefunksjon og reduserte infarktstørrelse. Postkondisjonering viste seg å beskytte rottehjerter in vivo i ett laboratorium. Postkondisjonerte musehjerter ble beskyttet både ex vivo og in vivo. Det kunne konkluderes med at rottehjerter var mindre passende for å studere mekanismene ved postkondisjonering.

Postkondisjonering tyder på å ha en svak effekt som beskyttelse i rotter, men effekten er variabel og muligens sterkere in vivo. Og effekten kan være forskjellig mellom rotteraserne. Itillegg kan føden tilført rottene under avl ha en viss påvirkning på resultatene. Uansett så kan man av tidligere erfaring og forsøk si at rotter ikke egner seg godt for å studere de molekylære mekanismene ved postkondisjonering. Videre er ikke rotter de eneste vesener hvor postkondisjonering er mindre effektiv. Schwartz feilet i å demonstrere infarktreduksjon i gris ved postkondisjonering. Prekondisjonering testet så langt viser å ha god effekt på alle raser. Dette tyder på at pre- og postkondisjonering kan ha forskjellige signal og effektorveier.

Postkondisjonering i hunder:

Ved avdeling for hjertekirurgi, Carlyle Fraser hjertesenter/Crawford Long Hospital, Emory medisinske universitet i Atlanta, Georgia ble det foretatt forsøk med postkondisjonering på hunder (2003)[24]. De sammenlignet også resultatene med prekondisjonering.

Hundene som var av begge kjønn ble anestetisert. Brystet ble åpnet ved venstre lateral thoracotomi. Trykk målere ble plassert i aorta og inn i venstre ventrikel. Krystaller ble plantet i myokard og forbundet med ett sonomicrometer for å måle regional kontraksjonsfunksjon. En doppler flow-sonde ble plassert på den venstre koronararterien og forbundet til ett puls-Doppler-flowmeter for å måle koronar blod flow. En silke sutur ble sendt under venstre koronararterie for å okkludere arterien.

Hundene ble tilfeldig puttet i en av de tre følgende grupper:

1.Kontroll (n=10), LAD okkludert i 60 minutter fulgt av 3 timer med reperfusjon.

2.Prekondisjonering (n=9), LAD ble okkludert i 5 minutter fulgt av 10 minutter med reperfusjon før 60 minutter med okklusjon.

3.Postkondisjonering (n=10), etter 60 min med LAD okklusjon ble reperfusjon satt igang i 30 sekunder fulgt av 30 sekunder med reokklusjon i tre sykluser.

Reperfusjon ble fortsatt i totalt 3 timer i alle eksperimentene (figur 1).

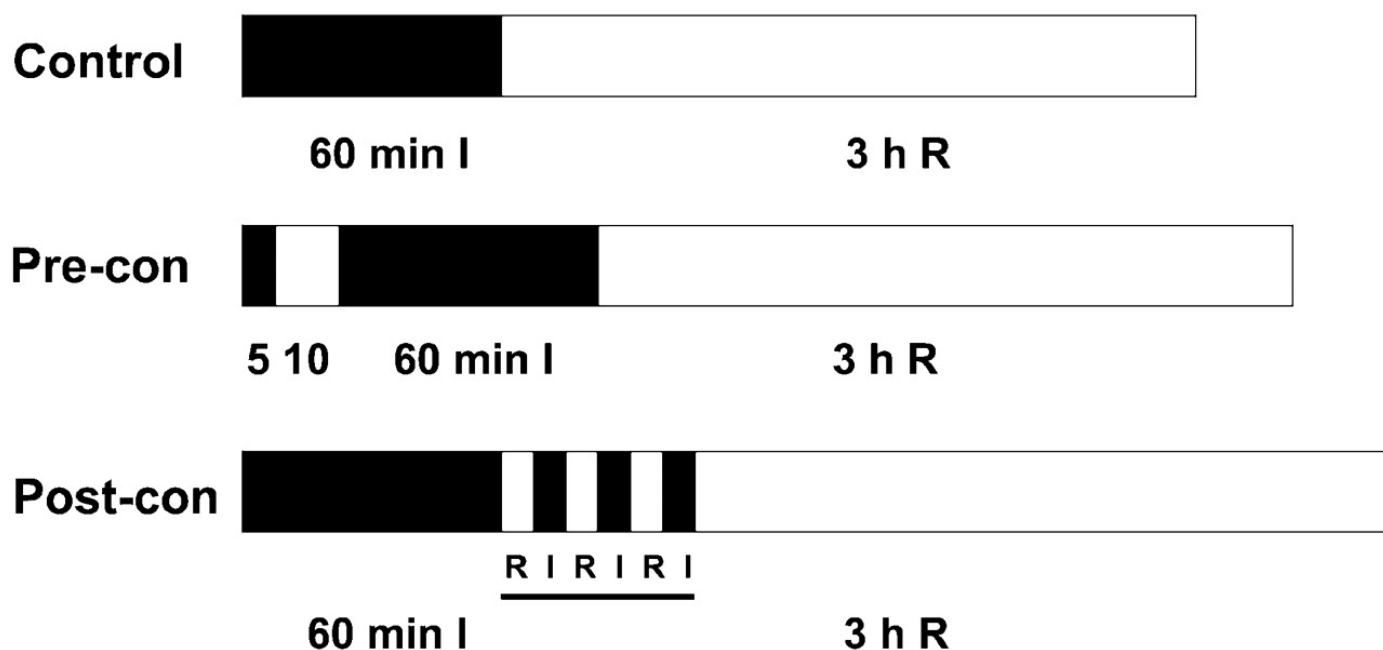


Fig. 1. Postkondisjonering i hunder (Zhao m fl.[24]). Eksperimentell protokoll brukt for å bestemme effekten av mulig variasjon i iskemisk postkondisjonering på myokard etter iskemi (I) og reperfusjon (R).

Resultater:

Relasjonen mellom infarktstørrelse og kollateral blod flow målt i transmural iskemisk sone under 60 minutter med iskemi: Det var ett inverst forhold mellom AN(area of necrosis)/AR(area at risk) og kollateral blod flow i hver gruppe. Det gikk frem at reduksjon i infarktstørrelse i post- og prekondisjonering var uavhengig av kollateral blod flow.

Plasma CK aktivitet under iskemi og reperfusjon: CK aktivitet ble brukt til å bekrefte infarktstørrelse. Koronar okklusjon økte CK verdiene bare svakt, med ingen variasjoner innenfor gruppene. Mens CK verdier var signifikant økte under reperfusjon relatert til iskemi, og nådde en endelig verdi på 16 ± 3 IU/g protein etter 3 timer reperfusjon i kontrollgruppen.

Vevsødem i iskemisk myocardium: Iskemi og reperfusjon økte betydelig vevsødem i AR sammenlignet med non-iskemisk myokard i kontrollgruppen. Vevsødem i den iskemisk subendokardiale region i den prekondisjonære og postkondisjonære gruppen var signifikant høyere enn i non-iskemisk myokard. Uansett så var vevsødem i disse to gruppene signifikant mindre sammenlignet med kontrollgruppen. Det var ikke signifikant forskjell mellom prekondisjonering og postkondisjonering angående vevsødem i noen regioner.

Som en konklusjon av forsøket kunne det legges frem at hjerteendotel og kardiomyocytter kan beskyttes når hjertet postkondisjoneres ved korte avbrutte sykluser med perfusjon i tidlig fase av re-flow. Graden av positiv effekt på myokard var sammenlignbar med det som er observert ved prekondisjonering.

Postkondisjonering i kaniner:

En annen fransk studie fra 2004 av Argaud m fl. [1], har brukt kaniner som forsøksdyr og fokusert på åpning av mPTP. Ved reperfusjon har åpning av mPTP vært involvert i dødelig skade. Hypotesen var at postkondisjonering kan inhibere mPTP åpning og dermed forminske infarktstørrelse.

Kaninene som var av hankjønn ble anestetisert. Apparat for å administrere farmaka og væsker, og for å måle blodtrykk og hjertefrekvens ble installert. En venstre thoracotomi ble foretatt, hjertet ble eksponert og en snare ble viklet rundt en gren av venstre koronar arterie for å indusere regional myokardiskemi. Alle dyrene undergikk 30 minutter med iskemi og 4 timer med reperfusjon.

Dyrene ble videre randomisert til følgende grupper (n=10 per gruppe):

1.kontrollgruppe

2.Prekondisjoneringsgruppe, 1 episode på 5 minutter med iskemi og 5 minutter med reperfusjon før forlenget iskemi.

3.Postkondisjoneringsgruppe, ingen intervensjon før 30 minutter med iskemi. Etter 1 minutt med reflow etter frigjøringen av 30 minutters okklusjon ble det foretatt 4 episoder med 1 minutts iskemi som hver ble separert med med 1 minutts reperfusjon.

4. NIM811 gruppen , ett minutt før reperfusjon mottok kaninene en i.v. injeksjon av med NIM811, en spesifikk inhibitor for åpning av mPTP.

Resultater:

Prekondisjonering reduserte infarktstørrelse. Både postkondisjonering og NIM811 minsket infarktsørrelse betydelig.

Det kunne rapporteres for første gang at postkondisjonering modifierer mPTP åpning og reduserer infarktstørrelse i kaninhjerter. Grunnlaget for forsøket var basert på tre observasjoner. Første er rapporten fra Zhao som indikerer at prekondisjonering og postkondisjonering er omtrent likeverdig beskyttende og at en signifikant grad av infarkt etter iskemi-reperfusjon er grunnet reperfusjon-indusert dødlig skade. Andre er at Griffiths og Halestrap demonstrerte at mPTP forblir lukket under iskemi men åpner i tidlig reperfusjonsfase. Tredje er nylige rapporter som demonstrerer at mitokondriell permeabel overgang er involvert i prekondisjonering og at blokade av mPTP reflow ved cyklosporin A er beskyttende mot hjertet. Derfor ble det undersøkt om mPTP åpning spilte en rolle i postkondisjonering.

Av rapporten gikk det frem at i in vivo kaninhjerter reduserte postkondisjonering infarktstørrelse betydelig og at beskyttelsen vedvarte etter 72 timer med reperfusjon. Dette indikerte at irreversibel myokardskade ikke bare ble forsinket men faktisk begrenset. Størrelsen av den beskyttende effekten ved postkondisjonering var lik den man fikk med NIM811, som spesifikt inhiberte mPTP åpning ved reperfusjon. Dette stemmer med tidligere studier av Hausenloy m. fl. og Javadov m. fl. som demonstrerte ved bruk av cyklosporin A i isolerte rottehjertemodeller, at mPTP er viktig ved dødelig reperfusjonsskade i myokard.

Postkondisjonering i menneskehjertet:

Til slutt beskrives postkondisjonering i mennesket. Akutt myokardinfarkt er den ledende årsaken til morbiditet og mortalitet i industriland[31]. Iskemisk postkondisjonering som består av repeterende korte episoder av iskemi-reperfusjon rett etter reflow fulgt av ett forlenget iskemisk insult, reduserer infarktstørrelse dramatisk i dyremodeller. Nylige data indikerer at det muligens involverer aktivering av P13-kinase-Akt-eNOS og PKC signalveier og inhibering av åpningen av mPTP. En klinisk studie demonstrerte nylig at postkondisjonering beskytter menneskehjertet. Repeterende korte episoder med inflasjon-deflasjon av angioplastikkballong utført rett etter reåpning av den gjeldende koronar arterien, reduserte infarktstørrelse med 36%. Tilleggsstudier er nødvendige for å bestemme om begrensning av infarktstørrelse ved postkondisjonering vil forbedre funksjonen igjen og i tillegg prognosen.

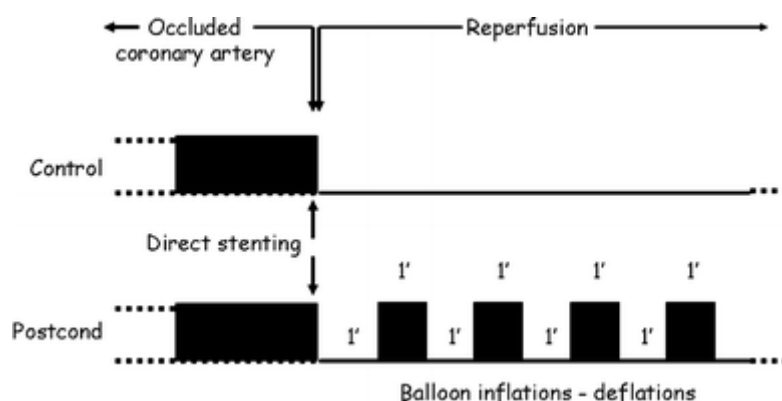
Begrensning av infarktstørrelse ser ut til å være den beste strategien for å hindre postiskemisk hjertesvikt og dermed forbedre overlevelse. Gode tilhørende terapiformer for reperfusjon som kan redusere infarktstørrelse og mortalitet er fraværende. Alle tilgjengelige behandlinger som brukes nå enten under eller etter ett akutt myokardinfarkt (platehemmere, beta-blokkere, ACE hemmere, statiner osv.) forbedrer utfallet via forskjellige mekanismer men forminsker ikke infarktstørrelse.

Under de siste tiårene har det vært mye debatt om reperfusjon fører til kardiomyocyttedd. Demonstrasjon av tilstedeværelse av irreversibel reperfusjonsskade krever identifikasjon av hvilken som helst terapiform som ville, når administrert ved reperfusjon, redusere infarktstørrelse. Tidligere rapporter, mest i in vitro eller ex vivo modeller, foreslo at dette kan være tilfelle. Fremdeles manglet in vivo demonstrasjoner. Postkondisjonering ga klare in vivo bevis for tilstedeværelsen av dødelig reperfusjonsskade. Selv om vi visste hvordan vi skulle begrense iskemisk skade (mest ved å redusere iskemitid via en tidlig reperfusjon og forbedre O₂ behov/tilførsel balanse ved å bruke betablokkere), vil postkondisjonering fortelle oss hvordan vi skal behandle reperfusjonsskade.

Viktig informasjon vi har fått fra postkondisjonering er at tidsvinduet for beskyttelse er ganske smalt. Når de korte episodene med iskemi-reperfusjon som utløser postkondisjonering blir forsinket med 1 minutt, vil ikke beskyttelsen tre i kraft. Med andre ord er mesteparten av den dødelige reperfusjonsskaden utløst innen det første minuttet med reflow etter forlenget iskemi.

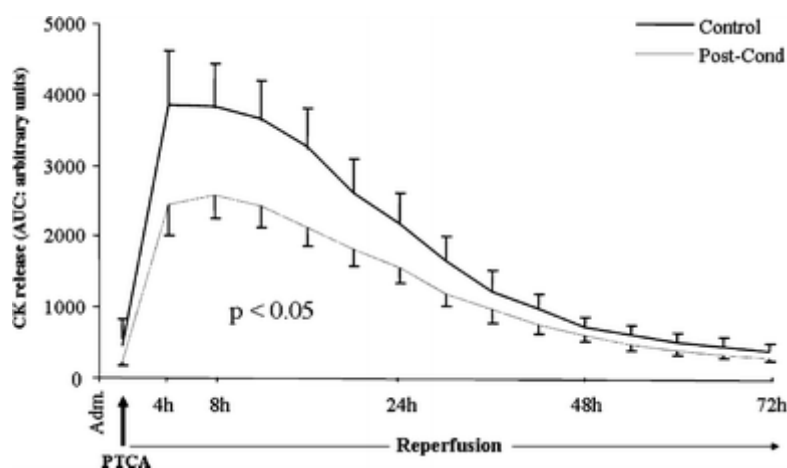
I de fleste pasienter med akutt myokard infarkt kan reperfusjon nå bli satt igang innen 6 til 12 timer fra brystsmertene starter, enten ved thrombolyse eller PCI. Kardiologer er i stand til å presist (for PCI) eller omtrent (for thrombolyse) bestemme tiden for reflow.

I 2004 designet Staat m.fl.[34] ett forsøk for hvordan i klinikken bestemme postkondisjonerings beskyttende effekt som var rapportert i dyreforsøk også passer pasienter som undergår akutt myokardinfarkt. Pasienter med STEMI (ST elevasjon myokard infarkt), pågående brystmerter under 6 timer og ett behov for angioplastikk revaskularisasjon ble inkludert i denne kontrollerte, randomiserte studien. Koronar angiografi viste fullt okkluderte venstre og høyre koronararterie, med ingen tegn til kollateral sirkulasjon. Pasientene ble randomisert til enten en kontrollgruppe eller en postkondisjoneringsgruppe. I begge gruppene ble koronar re-åpning utført ved direkte stenting (figur 2).



Figur 2. Eksperimentprotokoll ved menneskeforsøk (Staat m.fl [34]). Alle pasientene undergikk reperfusjon ved direkte stenting. Ingen annen intervensjon ble gitt i kontrollgruppen. I de postkondisjonerte pasientene, innen 1 minutt etter re-åpning av den gjeldende koronararterien, ble angioplastikk ballongen reinflatert/deflatert fire ganger i ett minutt. Etterfulgt av dette ble PCI utført på en lik måte i begge gruppene. Fylte rektangler indikerer iskemi.

Ingen annen behandling ble utført i kontrollgruppen. I de postkondisjonerte pasientene ble ballongen brått tømt etter stenting. Innen ett minutt ble angioplastikk-ballongen fylt opp igjen for ett minutt ved lavt trykk (for å ikke skade koronararterien). Dette ble repetert 4 ganger. Så ble full reperfusjon tillatt slik som i kontrollgruppen. Ett venstre-ventrikkel angiogram ble tatt før re-åpning av den okkluderte koronar arterien for å estimere størrelsen på AR. Området under kurven for CK frigjøring over de første 72 timene med reperfusjon ble brukt som en ekstra vurdering av infarktstørrelse. Dette demonstrerte at postkondisjonering signifikant reduserte infarktstørrelse med 36% (Figur 3).



Figur 3. CK frigjøring under reperfusjon menneskeforsøk (Staat m.fl [34]). Området under kurven med CK frigjøring ble avgjort i kontroll (mørk linje) og postkondisjonerte gruppen (svakere linje). Infarktstørrelse ble redusert ved 36% i den postkondisjonerte gruppen.

Forskjellen mellom de to gruppene vedvarte når AR (en stor markør for infarktstørrelse), estimert ved omfanget av området med abnormale kontraksjonssegmenter (ACS) ble tatt med i regnskapet (figur 4).

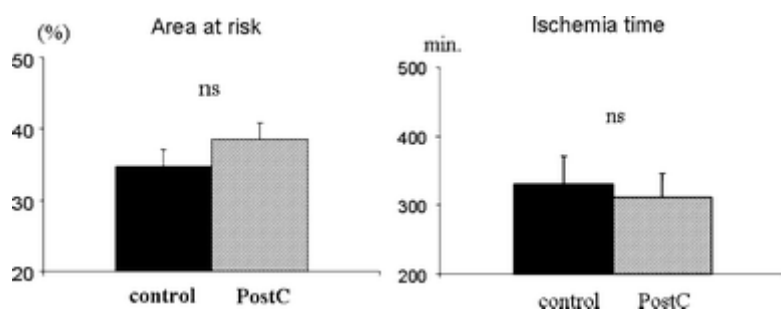


Fig 4

Determinanter av infarktstørrelse i mennesker (Staat m.fl [34]). Begge AR og varigheten av iskemi (fra starten av brystmerter til direkte stenting) var like i kontroll og postkondisjoneringsgruppen.

Varigheten av iskemi, som er en stor faktor for infarktstørrelse var sammenlignbar mellom de to gruppene. Denne studien demonstrerte at beskyttelsen ved postkondisjonering kan bli utløst i mennskehjertet.

Laskey rapporterte at repeterende 90-s ballong okklusjoner under angioplastikk, reduserte ST-segment hevnninger, økte raten av ST-segment elevasjon resolusjon (en markør for forbedret gjennomførbarhet og perfusjon) og økt flow hastighet i den infarkt relaterte arterien.

Darling m fl.[32] hadde lignende resultater sammenlignet med studien til Staat. Han hadde pasienter med ST-segment elevasjon myokardinfarkt som ble behandlet med mer enn fire deflasjon/inflasjon sekvenser. Men det var ingen god effekt med <4 inflasjoner .

Postkondisjonering under hjertekirurgi:

Postkondisjonering er av stor interesse når det gjelder hjertekirurgi. Selv om en stor motsigelse mot rutinemessig bruk av iskemisk pre- og postkondisjonering er faren for å skape embolier ved repeterende klyping og avklyping av ascenderende aorta. Postkondisjonering kan være brukbar i klinikken ved koronarkar-bypass kirurgi, organtransplantasjon og perifer revaskularisasjon hvor reperfusjonsskade er vist.

Fordelen med postkondisjonering i forhold til prekondisjonering er at det kan bli brukt i situasjoner med uplanlagte iskemiepisoder[30].

Postkondisjonering kan være ett bra supplement til konvensjonell revaskularisering da angioplastikk og hjerteoperasjon reduserer hjertefunksjon i flere måneder i etterkant av intervensjonen. Av studier fremgår det at vi fremdeles trenger forbedrede regimer for beskyttelse av hjertet. Dette på grunn av det faktum at det blir foretatt hjertekirurgi på enda eldre og sykere pasienter med ekstra risikofaktorer som redusert hjertefunksjon. De pasientene som trenger bedret beskyttelse kan f.eks være slike som det forventes lang operasjonstid på, eller de som har redusert venstre ventrikkelfunksjon. Eller også de som har store aterosklerotiske prosesser tilstede i hjertet. En stor forskjell mellom de pasientene vi ønsker å behandle ved pre- eller postkondisjonering og laboratoriedyr som mesteparten av forskningen har dreid seg om er at pasientene er gamle og har koronar hjertesykdom mens dyrene er unge og friske. Dette kan påvirke utfallet. Konseptet med postkondisjonering er attraktivt fordi intervensjoner ved reperfusjon er lette å utføre, og det inkluderer behandling av hjertepasienter med myokard infarkt.

Konklusjon:

Flere spørsmål står fremdeles ubesvart:

- Hva er beste (korteste ,tryggeste, mest effektive) postkondisjoneringsalgoritmen som kan redusere infarktstørrelse signifikant, uten å skade pasienten og hans koronararterie?
- Vil vanlig pågående behandling påvirke beskyttelsen gitt ved postkondisjonering?
- Vil komorbiditet påvirke beskyttelsen?
- Vil postkondisjonering være gunstig for pasienter som får delvis reperfusjon ved sykehusankomst?

Tidvis reperfusjon beskytter myokard mot vevsskade etter lengre iskemi. Det er likevel overbevisende bevis for at plutselig gjenopprettelse av blod flow til iskemisk myokard kan føre til skader som ikke var til stede ved slutten av iskemiperioden. Disse reperfusjonsskadene er hovedsaklig i form av kontraktil og koronar-vaskulær endothelial dysfunksjon, oppregulering av adhesjonsmolekyler på endotelet, og transendothelial emigrasjon av betennelsesceller inn i parenchymet, ødemer, infarkt og apoptose. Modifisering av de hemodynamiske forholdene (f.eks blod flow og intrakoronar perfusjonstrykk) under de tidlige fasene av reperfusjon har vist å redusere omfanget av reperfusjonsskade.

Videre studier er viktige for å finne frem til den optimale algoritmen for perfusjon-okklusjon sekvenser, like mye som for andre mekanismer involvert i postkondisjonering.

I tillegg mangler klare bevis for at dødelig reperfusjonsskade i myokard eksisterer i mennesker. Potensialet for postkondisjonering (f.eks begrensning av infarktstørrelse og forbedring av prognose) bør bli testet i kliniske situasjoner. Som ett alternativ hos pasientene som ikke kan undergå koronar angioplastikk, kan farmakologisk inhibisjon av mPTP ved reperfusjon være av interesse for trombolyse som tilleggsterapi. Kliniske undersøkelser er nødvendige for å stadfeste potensialet for bruk av mPTP inhibisjon i pasienter med akutt myokardinfarkt.

Mekanismene ved postkondisjonering

Det er mange signalveier som har betydning for postkondisjonering og de er sannsynligvis parallelle. Forskning hittil viser at adenosin reseptorer, kalsium overload, ROS, mKATP-kanal, protein kinaser og mPTP er viktige for forståelsen av mekanismene ved postkondisjonering. Videre er det per dagens forskning undersøkt på noen av de mangfoldige mekanismer man har holdt på med ved prekondisjonering, men framtiden kan vise at det er helt andre faktorer som er av betydning.

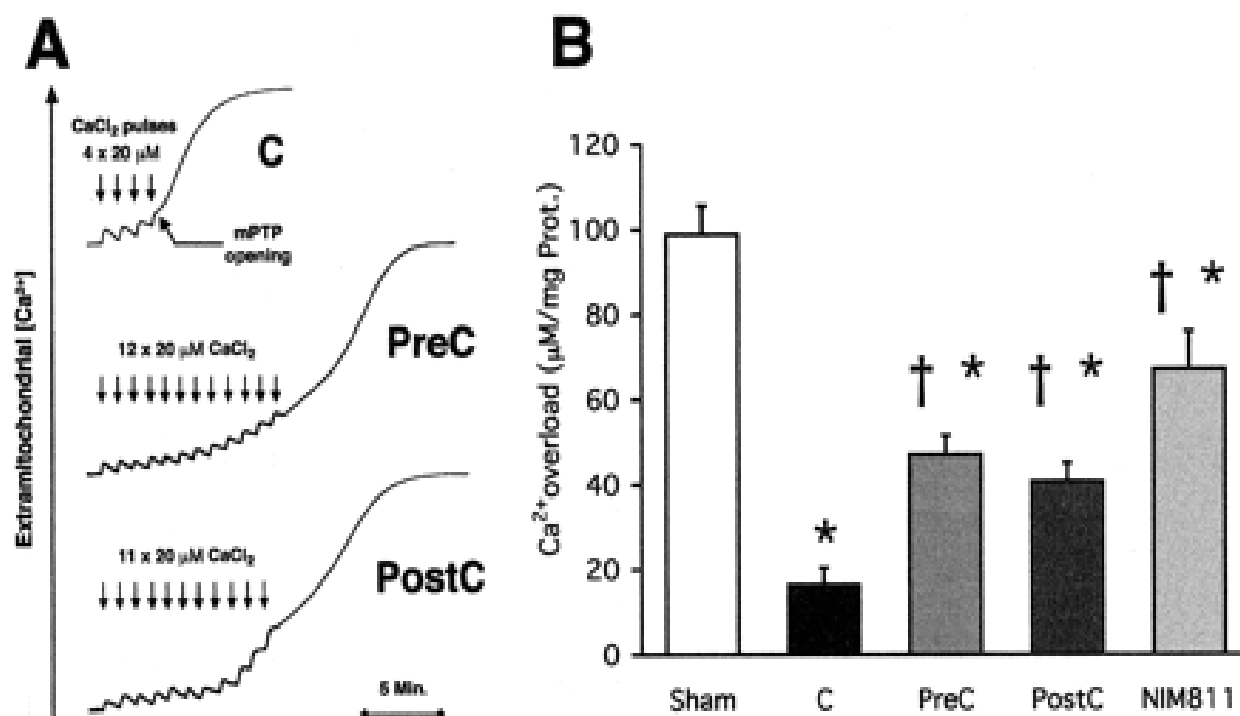
mPTP(mitochondrial permeability transition pore):

Plutselig reoksygenering fører til at respirasjonsskjeden som var hemmet av iskemi vil igjen starte ATP-syntese, men det vil føre til økt konsentrasjon av Ca og massiv produksjon av oksygen frie radikaler i matrix [1].

Under normale forhold er mPTP impermeabel for nesten alle metabolitter og ioner, altså mPTP er i lukket tilstand. Men reoksygenering kombinerer flere forhold som kan utløse åpning av mPTP, altså blant annet Ca overbelastning, oksygen frie radikaler, hemming av adenin nukleotider og akkumulasjon av uorganiske fosfater [3].

Åpningen av mPTP i indre mitondriemembran fører til kollaps av membranpotensial, frakobling respirasjonsskjeden og utslipp av cytokrom c og andre faktorer som kan lede til apoptose eller nekrose [38, 39, 40]. Ved postkondisjonering trengs det mer Ca for å åpne mPTP. Det samme gjelder for NIM811(hemmer av mPTP), (figur 5). Konklusjonen blir dermed at postkondisjonering hemmer Ca indusert mPTP-åpning og er derfor av betydning for effekten ved postkondisjonering. Forskjellen mellom kontrollgruppen og prekondisjoneringsgruppen tyder på at Ca indusert mPTP åpning ikke er en konsekvens av redusert celledød, men årsaken til det [1]. Flere andre studier viser viktigheten av mPTP ved postkondisjonering [1,6, 8, 9].

Studier viser også at proteinkinaser Akt og Erk 1/2 er viktige ved hemning av mPTP [6, 8, 9, 10].

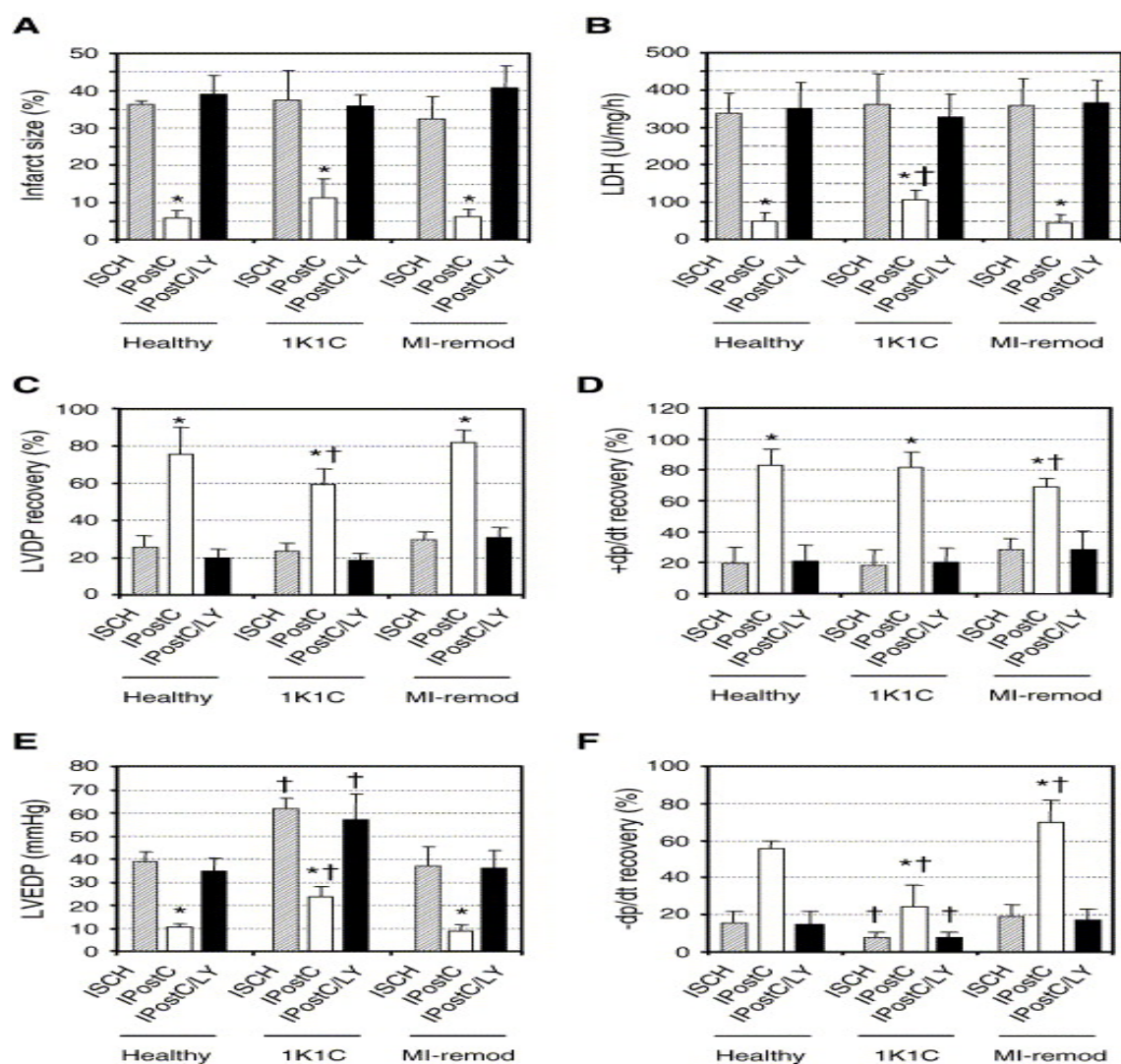


Figur 5: Viser Ca industert mPTP åpning i prekondisjonert og postkondisjonert hjerte. Ca overbelastning som trengs er signifikant høyere ved prekondisjonering og postkondisjonering [1].

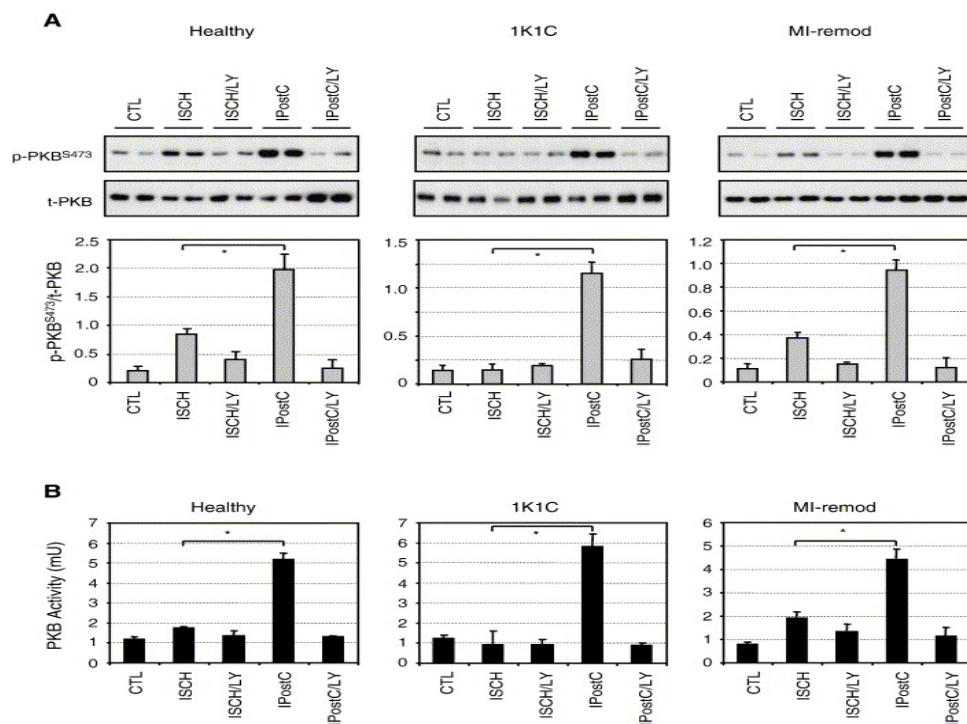
Protein kinaser (enzymmer som overfører fosfat fra ATP til proteiner):

PI3K-Akt (Fosfatidylinositol-3-OH kinase -Akt): PI3K-Akt er en komponent av RISK (reperfusion injury salvage kinase). Studier viser at postkondisjonering beskytter hjertet via aktivering av PI3K-Akt kaskaden [2,11]. Hvordan Akt aktiveres er ikke helt kjent, men endogent adenosin og stimulering av A2a adenosin reseptor kan ha betydning [2,12]. Hvordan Akt beskytter hjertet er også uklart, men studier har vist aktivering av p70S6K (70 kDa S6 protein kinase) og eNOS (endotelcelle nitrogen oksid syntetase) [2,11]. I tillegg er hemning av mPTP en mulig mekanisme.

Fosforylering og enzymaktivitet av PI3K-Akt er signifikant økt ved postkondisjonering sammenlignet med kontrollgruppe i både frisk og MI-remodulert hjerte[4]. Beskyttende effekt av postkondisjonering var fullstendig borte ved hemning av PI3K-Akt med LY294002 [4].



Figur 6: Denne figuren viser forskjellige målemetoder av hjerteinfarkt. Panel A viser infarktstørrelsen, panel B viser lakat dehydrogenase utslipp og panel C-F viser kontraktiliteten. 1K1C er hypertensivgruppen og MI-remod er gruppen med remodulert hjerteinfarkt. IPost/Ly er gruppen som har fått hemmer av PI3K/Akt, og legg merke til at effekten av postkondisjonering blir borte med denne hemmeren. Dette forsøket ble utført av Zhu og medarbeidere [4].



Figur 7: Panel A viser fosforyleringsstatus og panel B viser aktiviteten av Akt. Det er signifikant fosforylering og aktivering av Akt ved potkondisjonering [4]. Ved bruk av hemmer blir denne aktiviteten borte og fra forrige figur husker vi også at effekten av postkondisjonering ble borte ved bruk av hemmer. Forsøket ble utført av Zhu og hans medarbeidere [4].

Etter å ha sett på disse to figurene kan vi tenke oss at PI3K/Akt er av betydning for den beskyttende effekten ved postkondisjonering.

Mitogen-aktivert protein kinase (MAPK) familie: Erk (Ekstracellulære signalregulerte kinaser) 1/2 er kaskaden som tilhører MAPK familien. Forskning viser er at den er av betydning ved postkondisjonering [2,13]. Adenosin, PKC og ROS kan ha betydning for aktivering av Erk 1/2. Hvordan aktivering av Erk 1/2 fungerer beskyttende er ikke kjent men mulige mekanismer er :

- Aktivering av transkripsjonsfaktorer som NF- κ B og AP-1 [2,14].
- Redusert celledød gjennom flere anti-apoptotiske mekanismer[2,15]
- Hemming av mPTP[2,16]
- Reduksjon av gap-junctions [2,17]
- HIF-1 α er aktivert ved hypoksi og regulerer gener for cellulær beskyttelse mot hypoksi. Studier viser at HIF-1 α kan aktiveres av Erk 1/2 [2,18].

Protein kinase G: PKG er aktivert av NO-cGMP og studier viser betydning av NO ved postkondisjonering [2,19]. PKG åpner mK_{ATP}-kanal, [2,19]. Hemning av mPTP kan også være av betydning [2,20].

Protein kinase C: PKC er også viktig for å skjønne mekanismene ved postkondisjonering [2,21]. PKC aktivering gir beskyttelse muligens ved å hemme mPTP. Mekanismene for aktivering av PKC er ikke helt kjent, men adenosin reseptor stimulering kan være viktig her.

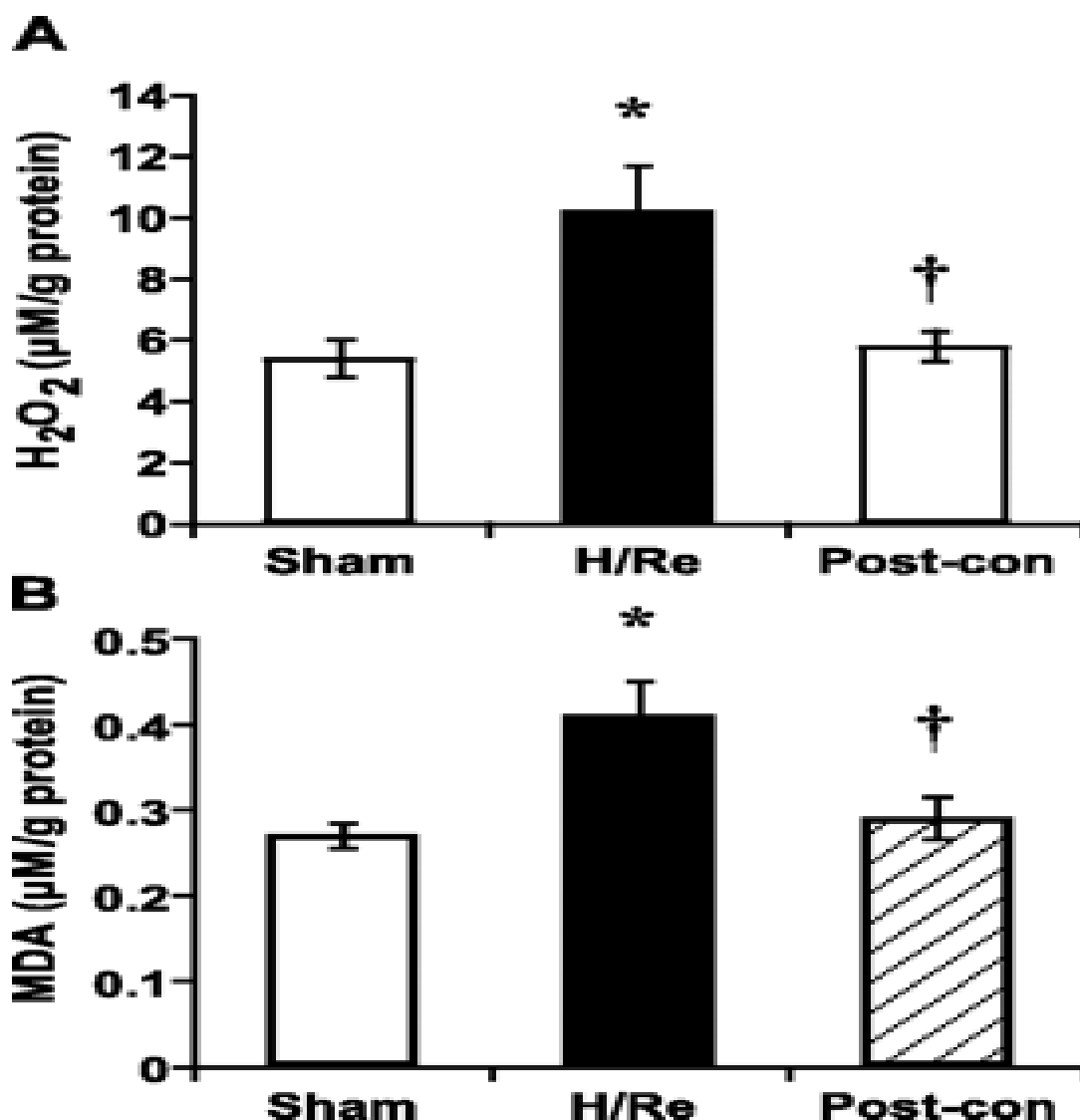
I tillegg til de protein kinasene som er nevnt ovenfor, finnes det andre som kan være av betydning.

Det trengs mer forskning til for å få en bedre forståelse av betydningen av protein kinaser og signalveiene ved postkondisjonering.

Endogen ligand binding: Studier viser at postkondisjonering beskytter hjertet ved endogen ligand binding[6, 22]. Adenosin, opiater og bradykinin fører til stimulering av celle-overflate reseptorer, som videre utløser signalveien som gir beskyttelse ved postkondisjonering[6]. Studier viser at effekten ved postkondisjonering blir borte ved bruk av adenosin reseptorantagonist [6, 7, 23]. Muligens er denne effekten via aktivering av Akt. Videre forskning er nødvendig for å identifisere de adenosin reseptor subtypene som er av betydning ved postkondisjonering.

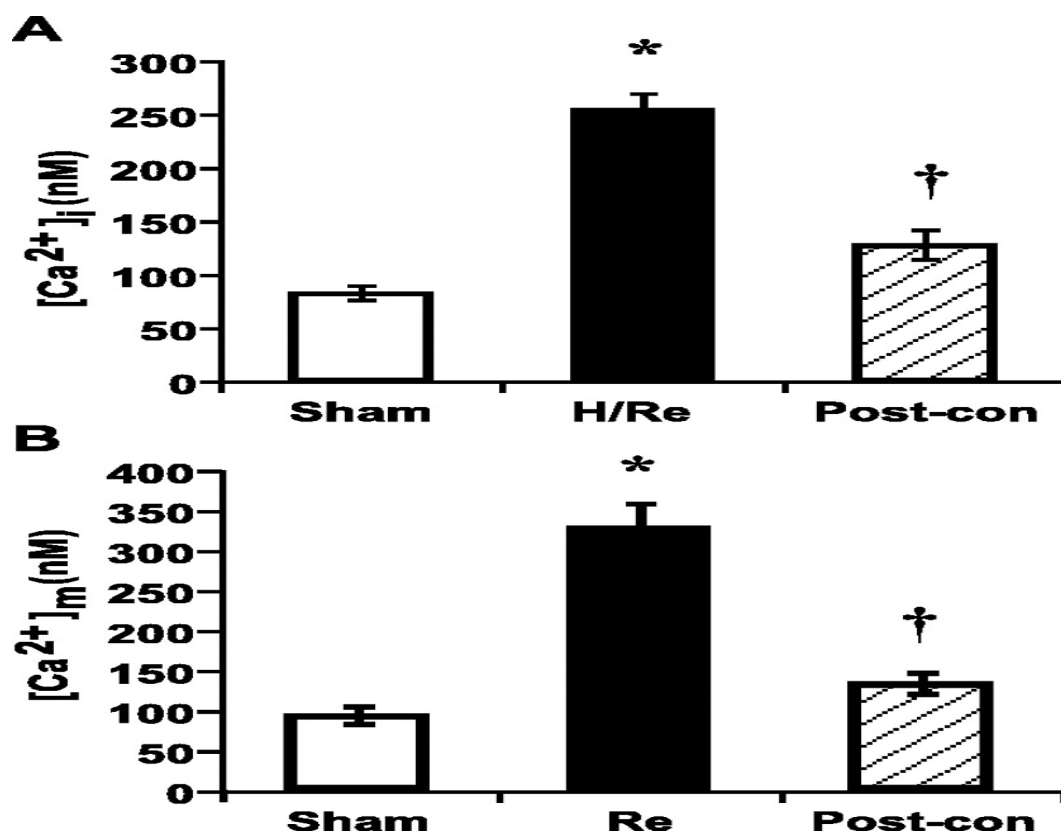
Apoptose: Studier viser at postkondisjonering beskytter mot apoptotisk celledød [6, 24]. Dette skyldes bla økt Bcl2 (proapoptotisk faktor), hemning av JNK (c-Jun NHP2 terminal kinase) og p38MAPK og nedregulering av BAX (anti-apoptotisk faktor) [6, 25].

ROS: Produksjonen av ROS (reactive oxygen species) øker ved reoksygenering. Studier som viser at postkondisjonering reduserer mengden av ROS [6, 24] kom fram til redusert mengde av malondialdehyd og superoksid ved postkondisjonering. Studier viser også at ved blokkade av PKC og mKATP-kanal, var den reduserte produksjonen ved prekondisjonering borte. Vi kan dermed anta at aktivering av PKC og KATP-kanal også er av betydning for antioksidant effekt ved postkondisjonering.



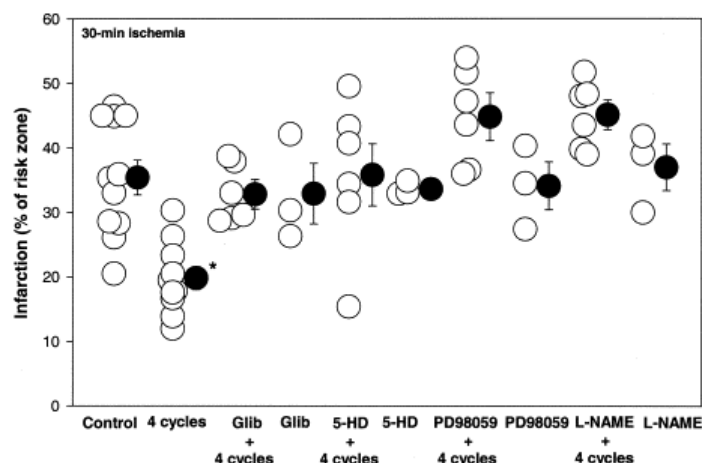
Figur 8: Dette viser konsentrasjonen av peroksid (gruppe A) og malondialdehyd (gruppe B). Vi ser at konsentrasjonen er lavere ved postkondisjonering i forhold til gruppa som bare ble reoksygenert. Eksperimentet er utført av Zhao og hans medarbeidere [6, 24].

Ca overload: I de første minuttene av av reoksygenering blir det akkumulasjon av Ca i cytosol som videre aktiverer fosfolipase, protease (enzym som spalter proteiner) og nuklease (enzym som bryter ned DNA). Videre øker konsentrasjonen av Ca i mitokondriet som sammen med ROS fører til åpning av mPTP og hyperkontraktur, og dermed celledød. Studier viser reduksjon av Ca i cytosol og mitokondrium ved postkondisjonering [6, 22]. Denne reduserte konsentrasjonen kan være viktig for den beskyttende effekten ved postkondisjonering.



Figur 9: Figur A viser den intracellulære konsentrasjonen av Ca for de forskjellige gruppene. Figur B viser den mitokondrielle konsentrasjonen for de samme gruppene. Vi ser at Ca konsentrasjonen ved postkondisjonering er signifikant lavere enn reoksygeneringsgruppa. Dette forsøket ble utført av Sun og hans medarbeidere [6, 22].

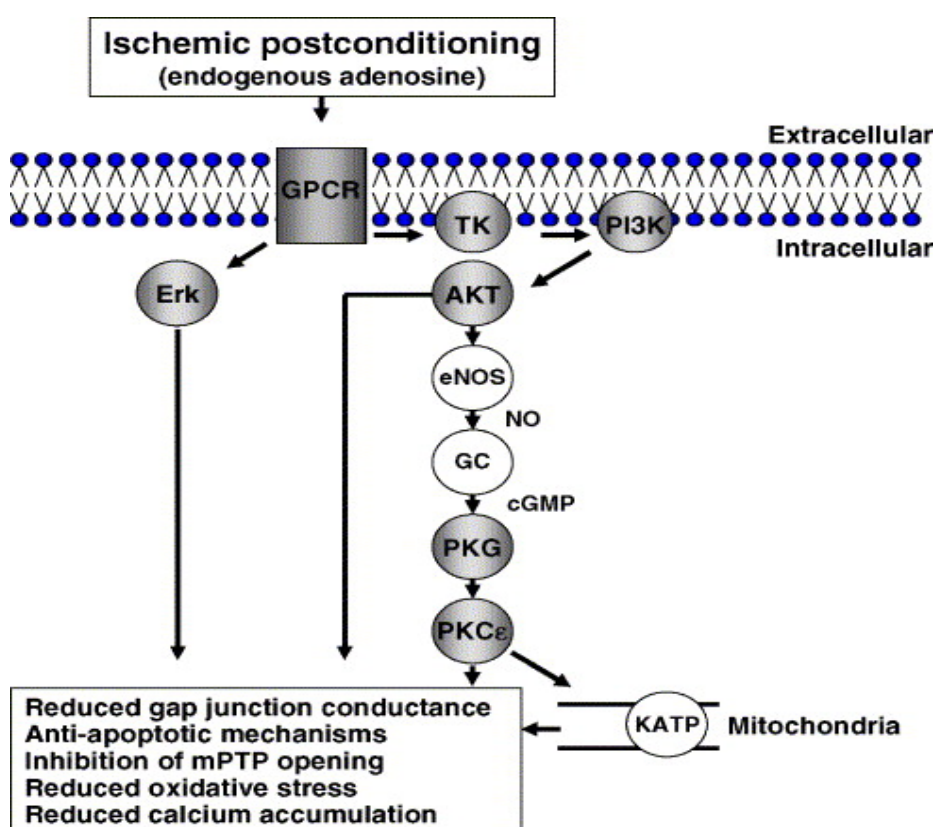
mKATP-kanal mitondriell ATP avhengig kalium kanal: Åpning av mKATP-kanal har betydning for postkondisjonering. Studier viser at beskyttelsen ved postkondisjonering blir borte ved blokkade av mKATP-kanal [5, 26]. Man antar at åpning av mKATP-kanal foregår via aktivering av Akt og Erk 1/2, og beskytter via hemning av mPTP, nedregulering av BAX og reduksjon av apoptose [6, 9].



Figur 10: Postkondisjonering reduserer infarkt, mens glibenclamide (Glib), 5-hydroxydecanoate (5-HD), PD98059, and N ω -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) blokkerer beskyttelsen. 5-HD blokkerer mKATP-kanalen og vi legger merke til at den beskyttende effekten blir borte. Dette forsøket ble utført av Yang og hans medarbeidere [5].

Konklusjon: Det er hittil vist at adenosin reseptorer, kalsium overload, ROS, mKATP-kanal, protein kinaser og mPTP er viktige for forståelsen av mekanismene ved postkondisjonering. Farmokologiske midler som virker på disse signalveiene kan brukes for å få en beskyttende effekt i tillegg til de vanlige inngrepene med bla PCI og trombolyse. Her kan vi nevne EPO og glukagonliknende peptid-1 som begge aktiverer Akt, og som har vist beskyttende effekt [6, 27, 28].

Figur 11: Hypotetisk beskrivelse av mekanismen ved postkondisjonering som er laget av Hausenloy og Yellon [2]. GPCR, G protein koblet reseptor; GC, Guanylate cyklase; KATP-kanal, mitokondriell kalium avhengig kanal.



REFERANSER

- [1] Argaud et al., 2005b L. Argaud, O. Gateau-Roesch, O. Raisky, J. Loufouat, D. Robert and M. Ovize, Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition, *Circulation* **111** (2005), pp. 194–197.
- [2] Derek J. Hausenloy and Derek M. Yellon. Survival kinases in ischemic preconditioning and postconditioning. *Cardiovascular Research*. Volume 70, Issue 2, 1 May 2006, Pages 240-253
- [3] O. Gateau-Roesch, L. Argaud, and M. Ovize. Mitochondrial permeability transition pore and postconditioning. *Cardiovasc Res*, May 1, 2006; 70(2): 264 - 273.
- [4] Min Zhu, Jianhua Feng, Eliana Lucchinetti, Gregor Fischer, Lin Xu, Thierry Pedrazzini, Marcus C. Schaub and Michael Zaugg. Ischemic postconditioning protects remodeled myocardium via the PI3K-PKB/Akt reperfusion injury salvage kinase pathway. *Cardiovascular Research*, Volume 72, Issue 1, 1 October 2006, Pages 152-162
- [5] X.M. Yang, J.B. Proctor, L. Cui, T. Krieg, J.M. Downey and M.V. Cohen, Multiple, brief coronary occlusions during early reperfusion protect rabbit hearts by targeting cell signaling pathways, *J Am Coll Cardiol* 44 (2004), pp. 1103–1110.
- [6] Derek J. Hausenloy and Derek M. Yellon. Preconditioning and postconditioning: United at reperfusion. *Pharmacology & Therapeutics*, Volume 116, Issue 2, November 2007, Pages 173-191
- [7] S. Philipp, X.M. Yang, L. Cui, A.M. Davis, J.M. Downey and M.V. Cohen, Postconditioning protects rabbit hearts through a protein kinase C-adenosine A2b receptor cascade, *Cardiovasc Res* 70 (2006), pp. 308–314.
- [8] Bopassa et al., 2006 J.C. Bopassa, R. Ferrera, O. Gateau-Roesch, E. Couture-Lepetit and M. Ovize, PI 3-kinase regulates the mitochondrial transition pore in controlled reperfusion and postconditioning, *Cardiovasc Res* 69 (2006), pp. 178–185.
- [9] Zhao et al., 2006 Z.-Q. Zhao, N.-P. Wang, J. Mykytenko, J. Reeves, J. Deneve and R. Jiang et al., Postconditioning attenuates cardiac muscle cell apoptosis via translocation of survival kinases and opening of KATP channels in mitochondria, *Circulation* 114 (18) (2006), p. II-261.
- [10] Davidson et al., 2006 S.M. Davidson, D. Hausenloy, M.R. Duchon and D.M. Yellon, Signalling via the reperfusion injury signalling kinase (RISK) pathway links closure of the mitochondrial permeability transition pore to cardioprotection, *Int J Biochem Cell Biol* 38 (2006), pp. 414–419.

- [11] A. Tsang, D.J. Hausenloy, M.M. Mocanu and D.M. Yellon, Postconditioning: a form of “modified reperfusion” protects the myocardium by activating the phosphatidylinositol 3-kinase–Akt pathway, *Circ Res* 95 (2004), pp. 230–232.
- [12] X.M. Yang, S. Philipp, J.M. Downey and M.V. Cohen, Postconditioning's protection is not dependent on circulating blood factors or cells but involves adenosine receptors and requires PI3-kinase and guanylyl cyclase activation, *Basic Res Cardiol* 100 (2005), pp. 57–63.
- [13] C.E. Darling, R. Jiang, M. Maynard, P. Whittaker, J. Vinten-Johansen and K. Przyklenk, ‘Postconditioning’ via stuttering reperfusion limits myocardial infarct size in rabbit hearts: role of ERK 1/2, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289 (2005), pp. H1618–H1626.
- [14] P. Ping, J. Zhang, X. Cao, R.C. Li, D. Kong and X.L. Tang et al., PKC-dependent activation of p44/p42 MAPKs during myocardial ischemia–reperfusion in conscious rabbits, *Am J Physiol* 276 (1999), pp. H1468–H1481.
- [15] D.J. Hausenloy and D.M. Yellon, New directions for protecting the heart against ischaemia–reperfusion injury: targeting the Reperfusion Injury Salvage Kinase (RISK)-pathway, *Cardiovasc Res* 61 (2004), pp. 448–460.
- [16] C.P. Baines, C.X. Song, Y.T. Zheng, G.W. Wang, J. Zhang and O.L. Wang et al., Protein kinase Cε interacts with and inhibits the permeability transition pore in cardiac mitochondria, *Circ Res* 92 (2003), pp. 873–880.
- [17] Y. Gao, Y.Q. Shan, M.X. Pan, Y. Wang, L.J. Tang and H. Li et al., Protein kinase C-dependent activation of p44/42 mitogen-activated protein kinase and heat shock protein 70 in signal transduction during hepatocyte ischemic preconditioning, *World J Gastroenterol* 10 (2004), pp. 1019–1027.
- [18] X. Liu, X. Wu, L. Cai, C. Tang and J. Su, Hypoxic preconditioning of cardiomyocytes and cardioprotection: phosphorylation of HIF-1α induced by p42/p44 mitogen-activated protein kinases is involved, *Pathophysiology* 9 (2003), pp. 201–205.
- [19] X.M. Yang, J.B. Proctor, L. Cui, T. Krieg, J.M. Downey and M.V. Cohen, Multiple, brief coronary occlusions during early reperfusion protect rabbit hearts by targeting cell signaling pathways, *J Am Coll Cardiol* 44 (2004), pp. 1103–1110.
- [20] K. Takuma, P. Phuagphong, E. Lee, K. Mori, A. Baba and T. Matsuda, Anti-apoptotic effect of cGMP in cultured astrocytes: inhibition by cGMP-dependent protein kinase of mitochondrial permeable transition pore, *J Biol Chem* 276 (2001), pp. 48093–48099.

- [21] A.J. Zatta, H. Kin, G. Lee, N. Wang, R. Jiang and R. Lust et al., Infarct-sparing effect of myocardial postconditioning is dependent on protein kinase C signalling, *Cardiovasc Res* (2006 Jan 26)
- [22] H.Y. Sun, N.P. Wang, F. Kerendi, M. Halkos, H. Kin and R.A. Guyton et al., Hypoxic postconditioning reduces cardiomyocyte loss by inhibiting ROS generation and intracellular Ca²⁺ overload, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288 (2005), pp. H1900–H1908.
- [23] X.M. Yang, S. Philipp, J.M. Downey and M.V. Cohen, Postconditioning's protection is not dependent on circulating blood factors or cells but involves adenosine receptors and requires PI3-kinase and guanylyl cyclase activation, *Basic Res Cardiol* 100 (2005), pp. 57–63.
- [24] Z.Q. Zhao, J.S. Corvera, M.E. Halkos, F. Kerendi, N.P. Wang and R.A. Guyton et al., Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285 (2003), pp. H579–H588.
- [25] H.Y. Sun, N.P. Wang, M. Halkos, F. Kerendi, H. Kin and R.A. Guyton et al., Postconditioning attenuates cardiomyocyte apoptosis via inhibition of JNK and p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways, *Apoptosis* 11 (2006), pp. 1583–1593.
- [26] P. Pasdois, L. Labrousse, B. Beauvoit, B. Vinassa, L. Tariosse and S. Bonoron-Adele et al., Implication of mitochondrial ATP-sensitive potassium channel during ischemic postconditioning in pigs, *Circulation* 114 (18) (2006), p. II-243.
- [27] A.K. Bose, M.M. Mocanu, R.D. Carr and D.M. Yellon, Glucagon like peptide-1 is protective against myocardial ischemia/reperfusion injury when given either as a preconditioning mimetic or at reperfusion in an isolated rat heart model, *Cardiovasc Drugs Ther* 19 (2005), pp. 9–11
- [28] H. Ehrenreich, M. Hasselblatt, C. Dembowski, L. Cepek, P. Lewczuk and M. Stiefel et al., Erythropoietin therapy for acute stroke is both safe and beneficial, *Mol Med* 8 (2002), pp. 495–505.
- [29] Mari-Liis Kaljusto ab; Tomohisa Mori bc; Syed Mohammad Husain Rizvi d; Michael Galagudza e; Marthe-Lise Frantzen bf; Guro Valen d; Jarle Vaage bf.(2006) Postconditioning in rats and mice. *Scandinavian Cardiovascular Journal*, 40:6, 334 - 341
- [30] Guro Valen, Jarle Vaage .Pre- and postconditioning during cardiac surgery. *Basic Res Cardiol* 100: 179 – 186 (2005)

- [31] Thibault H, Piot C, Ovize M. Postconditioning in man. *Heart Fail Rev.* 2007 Dec;12(3-4):245-8
- [32] Darling CE, Solari PB, Smith CS, Furman MI, Przyklenk K. Postconditioning' the human heart: Multiple balloon inflations during primary angioplasty may confer cardioprotection. : *Basic Res Cardiol.* 2007 May;102(3):274-8. Epub 2007 Jan 23
- [33] Kloner RA, Rezkalla SH. Preconditioning, postconditioning and their application to clinical cardiology. *Cardiovasc Res.* 2006 May 1;70(2):297-307. Epub 2006 Mar 3.
- [34] Staat P, Rioufol G, Piot C, Cottin Y, Cung TT, L'Huillier I, Aupetit JF, Bonnefoy E, Finet G, André-Fouët X, Ovize M. Postconditioning the human heart. *Circulation.* 2005 Oct 4;112(14):2143-8. Epub 2005 Sep 26.
- [35] Vinten-Johansen J, Zhao ZQ, Jiang R, Zatta AJ, Dobson GP. Preconditioning and Postconditioning: Innate Cardioprotection From Ischemia-Reperfusion Injury. *J Appl Physiol.* 2007 Jul 5.
- [36] Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. Postconditioning: reduction of reperfusion-induced injury. *Cardiovasc Res.* 2006 May 1;70(2):200-11. Epub 2006 Mar 20.
- [37] Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285:H579-88.
- [38] Bernardi P, Petronelli V. The permeability transition pore as a mitochondrial calcium release channel: a critical appraisal. *J Bioenerg Biomembr.* 1996; 28:129-36.
- [39] Piper HM, Meuter K, Schafer C. Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg.* 2003; 75: S644–S6448.
- [40] Di Lisa F, Menabo R, Canton M, Barile M, Bernardi P. Opening of the mitochondrial permeability transition pore causes depletion of mitochondrial and cytosolic NAD⁺ and is a causative event in the death of myocytes in postischemic reperfusion of the heart. *J Biol Chem.* 2001; 276: 2571–2575.